

Borrelia burgdorferi ve Morphea

Yıldız Yeğenoğlu, Türkan Saylan

Özet: Etiyolojisi tam bilinmeyen ve acrodermatitis chronica atrophicans (ACA) ile bazı klinik ve histopatolojik özellikleri paylaşılan lokalize skleroderma (morphea)'da ELISA yöntemi ile IgM ve IgG sınıfından *Borrelia burgdorferi* antikorlarını araştırdık. Biri kadın, diğeri erkek çocuk olan iki skleroderma olgusu uzun süre izlendi. 18 ay süre ile izlediğimiz kadın hastada başlangıçta hafif olan IgM seropozitifliğinin giderek arttığı, daha sonra IgG pozitifliğinin olaya iştirak ettiği, zaman içinde her iki antikor titresinde de azalma görülerek testlerin negatifleştiği, aynı zamanda klinik iyileşmenin de olduğu görüldü. 10 yaşındaki çocuk olgumuzda ise başlangıçta IgM seropozitifliği belirlenmişken, yinelenen testlerde antikor titresinin giderek azaldığı ve 5. ayda sertleşmenin yumuşaması ile beraber negatifleştiği, izleyen aylarda IgG sınıfı antikorların oluşmadığı gözlemlendi. IgG ve IgM pozitifliği saptanan serumlara rapid plasma reagin (RPR) ve VDRL testleri uygulanarak antilipoidal antikorların bulunmadığı, IgM seropozitifliğinde romatoid faktör (RF) ve antinükleer antikor (ANA) araştırılarak negatif oldukları belirlendi. Her iki hastaya ait serumlara Western blot yöntemi uygulandı ve spesifik antikorların bulunmadığı saptandı. Bu iki olgu değerlendirildiğinde, en azından bu iki hastada *B. burgdorferi* infeksiyonu ve morphea arasında spesifik bir birliktelik olmadığı, ancak morphea'lı hastaların çapraz reaksiyona neden olan antikorlar taşıdığı düşünülmüştür.

Anahtar Sözcükler: *Borrelia burgdorferi*, morphea, acrodermatitis chronica atrophicans.

Summary: *Borrelia burgdorferi* and morphea. In localized scleroderma (morphea) which includes the same clinical and histopathological properties with acrodermatitis chronica atrophicans and whose etiology is not entirely known, we searched for *Borrelia burgdorferi* antibodies which are of IgM and IgG classes with ELISA method. Two patients, a female and a male who have been suffering from scleroderma have been observed for a long time. It was detected that IgM seropositivity which had been low in quantity at the beginning had increased in a period of time, by time a decrease had been observed in both antibody levels, and the tests had become negative and clinical recovery had taken place in the female patient who had been observed for 128 months. In the ten year old patient, at the beginning IgM seropositivity was detected, by time a decrease in antibody levels as a result of repeated tests and the softening of tough skin in the 5th month were both observed. In the following months it was detected that IgG class antibodies have not been presence no longer occurred. Antilipoidal antibodies couldn't be detected after the application of rapid plasma reagin (RPR) and VDRL tests. In the case of IgM and IgG seropositivity when IgM seropositivity presence the serum has been investigated for rheumatoid factor (RF) and ANA and determined to be negative. The specific antibodies couldn't be detected in the serum of both patients after the application of Western blot technique. Both patients were evaluated and was thought that there was no specific similarity between *B. burgdorferi* infection and morphea but the patients with morphea had cross reacting antibodies.

Key Words: *Borrelia burgdorferi*, morphea, acrodermatitis chronica atrophicans.

Giriş

Derinin Lyme borelyozunun bilinen formları erythema chronicum migrans (ECM), lymphadenosis benigna cutis (LABC) ve acrodermatitis chronica atrophicans (ACA)'dır. Son yıllarda kenerlerin bulaştırdığı bir spiroket olan *Borrelia burgdorferi*'nin lokalize skleroderma (morphea), eozinofilik fasiit, lichen sclerosis et atrophicus, granuloma annulare, atrophoderma, porphyria cutanea tarda (PCT) gibi deri hastalıkları ile ilişkisi olabileceği düşünülmüştür (1,2).

Morphea geniş bir klinik tanımı olan, ancak etiyolojisi tam bilinmeyen bir dermatoz olup, morfolojik olarak guttat, plak, jeneralize ve lineer formlara ayrılır ve ayrıca skleroderm formunu da içerir (3). Klinik ve histopatolojik özellikleri, morphea'nın nedeninin bir infeksiyon olabileceğini düşündürmekte, başlangıçtaki inflamasyon ve daha sonraki sklerotik fazları klinik olarak erythema chronicum migrans veya acrodermatitis chronica atrophicans'a benzemektedir ki, bu fazların infeksiyöz spiroket *B. burgdorferi* ile ilişkisi olduğu bilinmektedir (3). Aberer ve arkadaşları (1)'nin yapmış oldukları bir çalışmada, morphea'nın *B. burgdorferi* infeksiyonunun göstergesi olduğu vurgulanmıştır. *B. burgdorferi*'nin izolasyonu zor olduğundan tanı ve tarama işlemlerinde serolojik tanı yöntemleri ağırlık kazanmaktadır (4,5).

Steere ve arkadaşları, ECM'in başlangıcından sonraki ilk birkaç hafta içinde IgM sınıfından antikorların ortaya çıktığını, IgG'nin daha yavaş geliştiğini, IgM ve IgG antikorlarının aylar ve yıllar boyunca pozitif kalabileceğini bildirmişlerdir. Hatta bir çalışmada IgM sınıfından antikorların ikinci bir kez ortaya çıkabileceği bildirilmiştir (5).

Günümüzde uygulanan serolojik testlerde antijen olarak hücrenin tümü kullanıldığından zaman zaman yetersiz özgüllük ve duyarlılıkta sonuçlar ve çapraz reaksiyonlar ortaya çıkmakta, dolayısıyla güvenilirlikten uzaklaşmaktadır (6,7).

Bu temele dayanan bir kısım araştırmacılar, morphea'lı hastalarda % 40-50 gibi yüksek oranda seropozitivite saptamışlar ve bu bulgu birçok araştırmacı tarafından tartışılmıştır (2).

Biz de bu görüşlerden yola çıkarak, morphea'lı 2 olgumuzda *B. burgdorferi* ve morphea arasındaki olası bir birlikteliği araştırmayı amaçladık.

Yöntemler

1'i kadın (yaş 36), diğeri erkek çocuk (yaş 10) 2 morphea olgusu incelendi. Çalışmanın başlangıcında hastalardan kene anamnezi konusunda bilgi alındı. Deri lezyonlarının ne kadar zamandır var olduğu, evvelce uygulanan antibiyotik tedavileri, diğer semptomlar soruldu. Histolojik tetkik amacıyla lezyonlardan kesit alındı.

Lyme IgM ve IgG antikorlarını belirlemek amacı ile, hastalar klinik kontrolleri için geldiklerinde serum örnekleri alındı ve ELISA yöntemi ile (Mardx, USA) çalışıldı. *B. burgdorferi* B31 suşu antijen olarak kullanıldı ve serumun final dilüsyonu 1/100 olarak belirlendi (8).

Sonuçların konfirmasyonu için Western blot yöntemi ile (Mardx, USA) nitroselüloz striplerde spesifik antikorlar arandı ve antijen olarak *B. burgdorferi* B31 suşu kullanıldı (8).

Antilipoidal antikorları saptamak için VDRL (Behring) ve rapid plasma reagin (RPR, Biotrol) testleri uygulandı, ayrıca Romatoloji Bilim Dalı laboratuvarında antinükleer antikor (ANA) ve romatoid faktör (RF) arandı. Kliniğimiz laboratuvarına rutin kan tetkikleri için başvuran ve rastgele seçilen 2 hastanın serum örnekleri, kontrol amacıyla kullanıldı.

Tablo 1. Morphea Olgularımızın Test Sonuçları

Morphea Tipi	Klinik Muayenenin Yapıldığı ve Serumun Alındığı Tarih	ELISA (EIA)		Western blot					
		IgM	IgG	IgM	IgG	VDRL	RPR	ANA	RF
Sklerödem	19.9.1991	±	-	-	-	-	-	-	-
	13.12.1991	++*	-	-	-	-	-	-	-
	27.3.1992	++*	+	-	-	-	-	-	-
	1.9.1992	±	±	-	-	-	-	-	-
	17.12.1992	-	-	-	-	-	-	-	-
	1.3.1993	-	-	-	-	-	-	-	-
Lineer	17.9.1992	+	-	-	-	-	-	-	-
	27.12.1992	±	-	-	-	-	-	-	-
	8.2.1993	-	-	-	-	-	-	-	-
	11.2.1993	-	-	-	-	-	-	-	-

* Pozitif

** Kuvvetli pozitif

Kontrol serumlarında Lyme EIA testi ile IgM-IgG antikorları saptanmamıştır.

Sonuçlar

Kadın olgumuz Giresun, erkek çocuk olgumuz ise Gölcük'ten gelmişlerdi. Her iki hasta da keneyle temaslarının olmadığını söylediler.

36 yaşındaki kadın hastada her iki kolda gelişen sertleşme ve şişme görüldü. Histopatolojik tetkik sklerödem tanısına uymaktaydı. Hastaya penisilin ve steroid tedavisi uygulandı. Tablo gerilemiş olup steroidi 15 mg düşürülerek, tedaviye devam edilmektedir.

10 yaşındaki erkek çocuğun bir bacağına oluşan lineer doku sertleşmesinden yapılan tetkiklerde herhangi bir patolojik durum saptanmadı. Histopatolojik bulgular lineer formdaki sklerodermaya uymaktaydı. Hastaya uzun süre penisilin, lokal tedaviler, fizik tedavi ve banyolar uygulandı. Durumunda bir ilerleme olmadığı için ilaçsız olarak kontrol altında tutulmaya devam edilmektedir.

İrdeleme

Morphea'nın patogenezi açıklamak için değişik teoriler geliştirilmiştir. Ancak bunların çok azı spesifik neden olarak kabul edilmektedir.

Lyme hastalığı *B.burgdorferi*'nin neden olduğu, multisistem bir infeksiyon hastalığı olup ECM, ACA ve LABC derinin Lyme hastalığı olarak bilinen formlarıdır (2,3,9).

Aberer ve arkadaşları (1) serolojik, immünohistokimyasal ve bakteriyolojik verilere dayanarak morphea'yı Lyme hastalığının derideki belirtisi olarak düşünmüşler ve 15 morphea'lı hastanın 8'inde *B.burgdorferi* antikorları bulmuşlardır.

Raguin ve arkadaşları (9) 15 morphea'lı hastada *B.burgdorferi* antikorları bulmadıklarını, dolayısıyla mikroorganizmanın morphea etiyolojisinde önemli olmadığını belirtmişlerdir.

Kliniğimizde yaptığımız bir çalışmada 7'si plak, 8'i lineer form olmak üzere toplam 15 hastada *B.burgdorferi* antikorlarını araştırdık ve plak tipi morphea'lı hastalardan 3'ü ve lineer formların 7'sinde olmak üzere toplam 10 hastada seropozitivite saptadık (10). Bir diğer çalışmamızda ECM'li olan 2 ve morphea'lı 1 hastada seropozitivite gördük (11).

Bu çalışmada da, lineer sklerodermalı erkek çocuk ve sklerödemli kadın hastamızda *B.burgdorferi*'ye karşı spesifik antikorlar belirlenmiştir.

B.burgdorferi'nin izolasyonu zor olduğundan serolojik testler tanıma özel yer tutarlar ve bu amaçla ELISA (EIA) indirekt fluoresan antikor (IFA), polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), Western blot, IgM antikor kaptür gibi saflaştırılmış veya rekombinan antijen temeline dayalı ELISA (ACEI) ve T hücre proliferatif testleri kullanılır (8,12-15).

EIA'nın IFA'dan daha duyarlı ve özgül olduğu kabul edilmek-

tedir. Ancak antijen olarak hücrenin tümü kullanıldığından diğer bakteriyel, viral ya da romatizmal kökenli hastalıklarda da çapraz reaksiyonlar, dolayısıyla yalnızca pozitif sonuçlar ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle pozitifliğin saptandığı durumlarda ANA, RF ve RPR testleri uygulanmalı; Epstein-Barr virusu, diğer spiroket ve riketsiya infeksiyonlarının erken fazda *B.burgdorferi*'nin spesifik IgM sentezini uyurabildiği unutulmamalıdır (3,6,7,12,16). Corpuz ve arkadaşları (17) % 27 oranında yalnızca pozitif sonuç aldıklarını bildirdiler. Ayrıca hastalık başlangıcında antibiyotik alımı erken hastalık döneminde ya antikorların yavaş gelişmesine yol açmakta, ya da oluşmasını önleyerek, yalnızca negatifliğe neden

olmaktadır (5). Bu nedenle EIA yönteminin konfirmasyonunda, erken ya da geç tablonun tanımlanması için Western blot yönteminde yararlanılır (8,18-20).

Erken evrede polipeptid yapısındaki 41 kDa kirpik antijenine karşı oluşan IgM ve IgG sınıfından antikorlar yüksek immünojenik değerde ve ilk oluşan band olmalarına karşılık, türe özgü olmadıklarından *Treponema*, *Leptospira* ve diğer *Borrelia* infeksiyonlarında da pozitif sonuç verirler. Erken evrede ayrıca 39 kDa'a karşı oluşan IgM ve IgG antikorları özel bir yer tutarlar.

Geç evrede 31 kDa (OspA) ve 34 kDa (OspB) komponentlerine karşı oluşan IgM ve IgG sınıfından antikorlar, *B.burgdorferi*'nin karakteristikleri olarak kabul edilir (8,21).

Düşük molekül ağırlığındaki bandlar genellikle türe özgü olup 41 kDa'dan büyük molekül ağırlığındaki bandlar, diğer bakteriyel ve viral hastalıklarda da ortaya çıkabilmektedir. Bazı araştırmacılar Western blot'un duyarlılığının yayınlarda bahsedildiğinden daha az olduğunu ileri sürmektedirler (8). İlk yaptığımız çalışmada seropozitivite saptadığımız 10 morphea olgusunda sonuçlarımızı konfirme etmek üzere Western blot yöntemini uygulayamadığımızdan, olası yalnızca pozitif reaksiyonları bilmiyoruz. Ancak bu çalışmadaki her 2 olgumuzun serum örnekleri Western blot yöntemi ile konfirme edildi ve spesifik antikor bandlarının oluşmadığı, dolayısıyla EIA yöntemiyle saptadığımız antikorların *B.burgdorferi*'ye ait olmadığı belirlendi. Kadın hastada EIA ile önce IgM pozitifliği gözlemlenmiş, daha sonra IgG olaya iştirak etmiş, başvuru tarihinden yaklaşık 15 ay sonra testlerin negatifleştiği, daha sonraki kontrolde negatifliğin devam ettiği görülmüştür. Bu süre içinde hastaya penisilin ve steroid tedavisi uygulanmıştır. Erkek çocuk hastamızın ilk başvurusunda IgM pozitifliği saptanmış, penisilin tedavisine alınan olgumuzun 5. ay kontrolünde IgM'nin negatif olduğu, IgG oluşmadığı, daha sonraki tetkiklerinde negatifliğin sürdüğü görülmüştür. Bu durumun, hastalığın başlangıcında uygulanan antibiyotik tedavisinin antikor oluşumunu baskıladığı teorisine uygun düştüğü görülmektedir (5).

Yıllarca önce ACA ve morphea arasındaki çarpıcı benzerlikler her iki dermatozun aynı hastalığın farklı görünüşleri olarak algılanması sorularına yol açmış, ACA'lı hastaların % 100'ünde anti-piroketal antikorlar bildirilmiş, histolojik kesitlerde etken saptanmıştır. 1949'dan beri ACA ve morphea penisilin ile tedavi edilmişlerdir (1). EIA yöntemi ile *B.burgdorferi*'ye karşı oluşan IgM ve IgG sınıfından antikorlar saptanır saptanmaz, hastalarımız penisilin ile tedavi edildiler ve seropozitivite durumu kayboldu. Ancak Western blot ile spesifik antikorlar saptanmadı.

O halde, önce antijenin saflaştırılması yönünde çalışmalar yo-

ğunlaştırılmalı, ticari kitlerin performansı artırılmalıdır. Gerek laboratuvarların kendi içinde, gerekse laboratuvarlar arasında birliktelik sağlanmalıdır (22,23). Serolojik testlerin Lyme hastalığı için gerekli, ancak tanı için tek parametre olmadığı bilinmelidir.

Ayrıca çok sayıda hasta ile daha çok çalışmalar yapılmalıdır. Bu çalışmadaki 2 hastamız ile *B.burgdorferi* ve morphea arasındaki etyolojik birlikteliği açıklamak, konfirme edici testlere rağmen olası değildir. İmmünohistokimyasal yöntemler, kültür ve deri biyopsi çalışmaları hızlandırılmalı, uygulanan testler arasında mutlaka bir standardizasyona gidilmelidir.

Kaynaklar

1. Aberer E, Stanek G, Ertl M, Neumann R. Evidence for spirochetal origin of circumscribed scleroderma (morphea). *Acta Dermatovenereol* 1987; 67: 22-3
2. Halkier-Sorensen L, Kragballe K, Honsen K. Antibodies to the Borrelia burgdorferi flagellum in patients with scleroderma, granuloma annulare and porphyria cutanea tarda. *Acta Dermatovenereol* 1989; 79: 116-9
3. Hoesly JM, Mertz LE, Winkelmann RK. Localized scleroderma (morphea) and antibody to Borrelia burgdorferi. *J Am Acad Dermatol* 1987; 17: 455-8
4. Morshed MG, Konishi H, Nishimura T, Nakazawa T. Evaluation of agents for use in medium for selective isolation of Lyme disease and relapsing fever Borrelia species. *Eur J Clin Microbiol* 1993; 12: 512-3
5. Steere AC, Grodzicki RL, Kornblatt AN, Craft J, Barbour AG, Burgdorfer W, Schmid GP. The spirochetal etiology of Lyme disease. *N Engl J Med* 1983; 308: 733-40
6. Bergström S, Sjöstedt A, Dotevall L, Kaijser B, Ekstrand-Hammarström B. Diagnosis of Lyme Borreliosis by an Enzyme Immunoassay detecting immunoglobulin G reactive to purified Borrelia burgdorferi cell components. *Eur J Clin Microbiol* 1991; 10: 422-7
7. Magnarelli LA, Anderson JF, Johnson RC. Cross-reactivity in serological tests for Lyme disease and other spirochetal infections. *J Infect Dis* 1987; 156: 183-8
8. Schmitz JL, Powell CS, Folds JD. Comparison of seven commercial kits for detection of antibodies to Borrelia burgdorferi. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993; 12: 419-24
9. Raguin G, Bosnic S, Souteyrand P, Baranton G, Piette JC, Godea P, Frances C. No evidence for a spirochetal origin of localized scleroderma. *Br J Dermatol* 1992; 127: 218-20
10. Yeğenoğlu Y, Anđ Ö, Azizlerli G, Özarmağan G, Baykal C. Morphea'da Borrelia burgdorferi antikorları. *Türk Mikrobiyol Cemiy Derg (Baskıda)*.
11. Onsun N, Çınar S, Ergenekon G, Yeğenoğlu Y. Borrelia burgdorferi antikor pozitifliği saptadığımız olgular. *In: 14.Ulusal Dermatoloji Kongresi (1-4 Eylül 1992) Kongre Kitabı, 1992: 317-23*
12. Cevanini R, Sambri V, Massaria F, Franch NR, Antuono A, Borda G, Negosanti M. Surface immunofluorescence assay for diagnosis of Lyme diseases. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 2456-61
13. Craft JE, Grodzicki RL, Steere AC. Antibody response in Lyme disease. Evaluation of diagnostic tests. *J Infect Dis* 1984; 194: 785-95
14. Dressler F, Yoshinari NH, Steere AC. The T-cell proliferative assay in the diagnosis of Lyme disease. *Ann Intern Med* 1991; 115: 533-9
15. Schwartz I, Bittker S, Bowen SL, Cooper D, Pavia C, Wormser GP. Polymerase chain reaction amplification of culture supernatants for rapid detection of Borrelia burgdorferi. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993; 12: 879-82
16. Russell H, Sampson JS, Schmid GP, Wilkison HW, Plikaytis B. Enzyme-linked immunosorbent assay and indirect immunofluorescence assay for Lyme disease. *J Infect Dis* 1984; 149: 465-71
17. Corpuz M, Hilton E, Lardis PM, Singer C, Zolan J. Problems in the use of serologic tests for diagnosis of Lyme disease. *Arch Intern Med* 1991; 151: 1837-40
18. Assous MV, Postic D, Paul G, Nevot P, Baranton G. Western blot analysis of sera from Lyme borreliosis patients according to the genomic species of the Borrelia strains used as antigens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993; 12: 261-8
19. Ma B, Christen B, Leung D, Vigo-Pelfrey C. Serodiagnosis of Lyme borreliosis by Western immunoblot. Reactivity of various significant antibodies against Borrelia burgdorferi. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 370-6
20. Pachner AR, Ricalton NS. Western blotting in evaluating Lyme seropositivity and the utility of a gel densitometric approach. *Neur* 1992; 42: 2185-92
21. Yeğenoğlu Y. Lyme hastalığı. *İstanbul Halk Sağlığı Bil* 1991; 15: 28-34
22. Bakken LL, Case KL, Callister SM, Bordeau NJ, Schell RF. Performance of 45 laboratories participating in a proficiency testing program for Lyme disease serology. *JAMA* 1992; 268: 891-5
23. Hadberg CW, Osterholm MT, MacDonald KL, White KE. An interlaboratory study of antibody to Borrelia burgdorferi. *J Infect Dis* 1987; 155: 1325-7